

Title	Constitutive and IL-1 inducible factors interact with the IL-1 responsive element in the IL-6 gene
Author(s)	一色, 弘
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37954
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	いっしき ひろし
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 10161 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科 病理系専攻
学位論文名	Constitutive and IL-1 inducible factors interact with the IL-1 responsive element in the IL-6 gene (IL-6 遺伝子の IL-1 反応性エレメントに結合する構成的および IL-1 誘導性核蛋白)
論文審査委員	(主査) 教授 平野 俊夫 (副査) 教授 岸本 忠三 教授 谷口 維紹

論文内容の要旨

(目 的)

IL-6 は、様々な標的細胞に作用し、多彩な生物活性を発揮するサイトカインである。IL-6 の異常産生は、慢性関節リウマチ、キャスルマン氏病、多発性骨髄腫、メサングウム増殖性腎炎等の種々の疾患の病態に関与している。IL-6 遺伝子の発現機構を解明することは、生理的および病理的な IL-6 産生機構を考えるうえでも重要である。IL-6 遺伝子発現の制御は、おもに転写の段階で調節されている。IL-1 による IL-6 遺伝子転写活性化に関与する cis-elements および trans-acting factors を明らかにするために、本研究を行った。

(方 法)

1. ヒトおよびマウス IL-6 染色体遺伝子の 5' 上流域を比較し、既知の cis-elements が存在するか否かを検討した。
2. ヒト IL-6 染色体遺伝子を 5' 上流域の様々な位置で削除した 5' deletion mutant を作成した。作成した mutant を pSV 2 Neo と共に、マウス L 細胞に導入し、G 418 耐性のコロニーを得た。得られたトランスフォーマントを IL-1 で刺激し、ヒト IL-6 mRNA の誘導の有無をノーザン・ブロットにて解析した。
3. IL-1 による IL-6 遺伝子転写活性化に関与する trans-acting factors を解析するため、ヒト IL-6 遺伝子 5' 上流域を DNA プローブとして、Gel shift assay を行った。
4. IL-6 遺伝子 5' 上流域を CAT 遺伝子に結合させたキメラ遺伝子を用いて、IL-1 の反応性の有無を調べるため、CAT assay を行った。

(結 果)

1. ヒトおよびマウス IL-6 遺伝子の 5' 上流域約 350 bp は、相同性が高く、-283~-277 には AP-1 サイトが、-169~-124 には c-fos SRE と類似性を有する領域が -163~-158 には CRE が、-73~-64 には NF- κ B サイトが、それぞれ存在する。
2. ヒト IL-6 遺伝子を 5' 上流域を、-180 の位置まで削除した場合には、ヒト IL-6 の転写は誘導されたが、-122 の位置まで削除した場合には、ヒト IL-6 の転写は認められなかった。
3. -179~-111 の DNA フラグメントを、 32 P で標識し、非刺激及び IL-1 刺激後ヒト膠芽腫細胞 SK-MG 4 核蛋白を用いたところ、非刺激では complex B 1 が、IL-1 刺激後では complex B 1 に加えて、より移動度の遅い complex B 2 が形成された。この領域内各種 DNA フラグメントを用いて competition gel shift assay を行った結果、B 1, B 2 共に、-158~-145 の 14 bp パリンドローム構造を含む DNA フラグメントの存在より消失した。complex B 1, B 2 を形成する核蛋白を NF-IL 6 と命名した。
4. -122~+12 を CAT 遺伝子に結合させた K 9 CAT, K 9 CAT に 14 bp パリンドロームを 3 コピー結合させた IL-1 RE K 9 CAT を作成した。これらリポタープラスミドを、リン酸カルシウム法にて SK-MG 4 に導入し、CAT assay を行った。IL-1 RE K 9 CAT を用いた時には、IL-1 刺激により CAT 活性が著明に誘導された。14 bp パリンドロームは、IL-1 反応性エレメントであることが示された。

(考 察)

IL-1 による IL-6 遺伝子転写活性化機構を解析した結果、IL-6 遺伝子 5' 上流域 -158~-145 に存在する 14 bp パリンドロームと、この 14 bp パリンドロームに結合する NF-IL 6 が、IL-1 による IL-6 転写活性化に関与していることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

本研究は、IL-6 遺伝子の発現制御に関与する cis-element および、trans-acting factor を解析したものであり、IL-6 遺伝子 5' 上流域 -158~-145 に存在する 14 bp パリンドロームと、この 14 bp パリンドロームに結合する NF-IL 6 が IL-1 による IL-6 遺伝子転写活性化に関与していることを、明らかにした。

本研究による NF-IL 6 の同定により、その後の NF-IL 6 の遺伝子クローニングの成功につながった。

以上により本論文は、学位論文に値すると考えられる。